

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/70	ADU	8314-4C		
	AED			
I C 0 7 H 13/08		7822-4C		
C 1 2 N 9/99				

審査請求 未請求 請求項の数1(全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平3-64016	(71) 出願人	000137764 株式会社ミドリ十字 大阪府大阪市中央区今橋1丁目3番3号
(22) 出願日	平成3年(1991)3月4日	(72) 発明者	田沼 靖一 東京都八王子市小門町1-10
		(72) 発明者	岡野 忠 大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1 株式会社ミドリ十字中央研究所内
		(72) 発明者	中島 常隆 大阪府枚方市招提大谷2丁目1180番地の1 株式会社ミドリ十字中央研究所内
		(74) 代理人	弁理士 高島 一

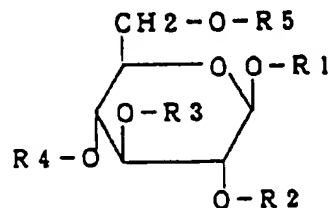
(54) 【発明の名称】 ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤

(57) 【要約】

【目的】 ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤(悪性腫瘍の治療・予防剤)を提供すること。

【構成】 一般式

【化1】



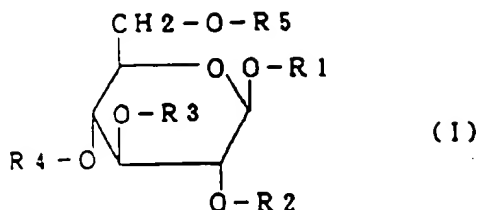
(式中、R¹ ~ R⁵ はそれぞれガロイルを示す。) で表わされるグルコース誘導体を有効成分とするポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 一般式

【化1】



【式中、 $R^1 \sim R^5$ はそれぞれ水素原子またはA（ただし、Aは水酸基および低級アルコキシから選ばれる複数の基で置換されたフェニルを有するカルボニルを示す。）を示す。ただし、 $R^1 \sim R^5$ は同時に水素原子を示すことはない。）で表わされるグルコース誘導体を有効成分とするポリ（ADP-リボース）グリコヒドラーゼ阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、後記化2で表わされるグルコース誘導体の新規な用途に関する。

【0002】

【従来技術・発明が解決しようとする課題】現有の抗癌剤の殆どは、DNA合成あるいは細胞分裂を抑制する作用を持つが、これは正常細胞に対しても同等な作用を示す。わずかに癌細胞は細胞分裂が速く、正常細胞は遅いという差を利用して癌細胞により多くの障害を与えることで癌治療が成り立っている。正常細胞が受けた障害は、副作用として表現され、生体はその副作用にどこまで耐えられるかが、癌治療上で重要なポイントとなっている。

【0003】以上のことから明らかなように、本来の癌治療は癌細胞の生物学、生化学等に根ざすべきものであるが、現実にはその様な癌治療法にまで結びついていない。

【0004】癌の原因としては、発癌物質、放射線および癌ウイルスの3つが古くより指摘されてきた。その内、癌ウイルスの持つ遺伝情報により細胞が癌化することが明らかになり、oncogene（癌遺伝子）なる言葉が生まれた。その後、癌遺伝子は正常細胞にも存在し、それが何らかの原因でスイッチオンされて、細胞が癌化するという仮説が立てられたのである。これは、時の流れと共に発展し、今日その大筋が正しかったことは、当業者であれば誰しも認めるところである。

【0005】一方、高等動物のゲノムには癌遺伝子となり得るproto-oncogeneが50種以上存在し、それらは正常細胞の増殖や分化に重要な生理機能を果たしている。それ故、細胞増殖や癌の制御の遺伝子レベルもしくは遺伝子産物レベルでのコントロールの可能性が生まれて来た。

【0006】本発明の目的は癌遺伝子の発現を特異的に

2

阻害し、これを抑制する癌治療剤を提供することにある。

【0007】ところで、挿入されたマウス乳癌ウイルス（MMTV）遺伝子の発現がコルチコイドにより制御されているマウス乳癌細胞を用い、MMTV遺伝子発現にはクロマチンタンパク質での脱ポリADP-リボース反応が引金となっていることが見出されている。即ち、ポリADP-リボースが分解されることにより、その部分のクロマチン構造の局所変化が、最終的にはRNAポリメラーゼのプロモーターへの結合と転写促進につながると考えられている（ジャーナル・バイオロジカル・ケミストリー、258, 15371 (1983)）。

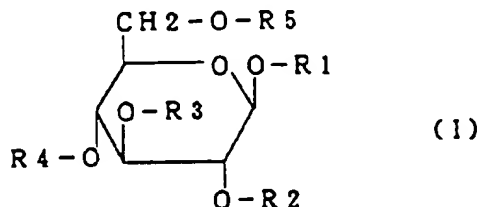
【0008】この様な実情の下に、本発明者らはポリADP-リボースの分解を阻止すれば、癌遺伝子が活性化されなくなると予想し、ADP-リボースの分解に関与する酵素であるポリ（ADP-リボース）グリコヒドラーゼをヒト胎盤より分離精製し、本酵素に対し阻害作用をもつ化合物を検討した。その結果、幾つかの新規化合物に強い阻害活性を見出した。そして、さらに検討を進めポリ（ADP-リボース）グリコヒドラーゼ阻害に基づく抗癌作用を有する医薬として、使用に耐え得る化合物を創製することに成功し本発明を完成した。

【0009】

【課題を解決するための手段】即ち、本発明の要旨は以下の通りである。

① 一般式

【化2】



【式中、 $R^1 \sim R^5$ はそれぞれ水素原子またはA（ただし、Aは水酸基および低級アルコキシから選ばれる複数の基で置換されたフェニルを有するカルボニルを示す。）を示す。ただし、 $R^1 \sim R^5$ は同時に水素原子を示すことはない。）で表わされるグルコース誘導体を有効成分とするポリ（ADP-リボース）グリコヒドラーゼ阻害剤。

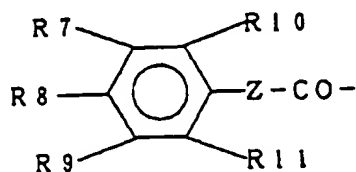
【0010】本明細書において、Aで示される低級アルコキシは、好適には炭素数1~4であり、具体的にはメトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ等が例示されるが、特にメトキシが好ましい。

【0011】当該Aとしては、特にアルキレンまたはアルケニレンを介して、フェニルとカルボニルが結合したものおよびフェニルとカルボニルが直接結合したものが好ましい。アルキレンとしては、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン等の炭素数1~4のもの

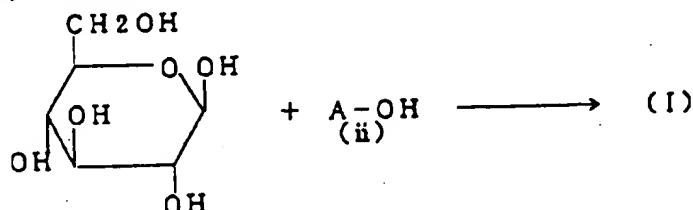
が例示されるが、特にメチレン、エチレンが好ましく、アルケニレンとしては、炭素数1~4のものが例示され、特にビニレンが好ましい。

【0012】当該Aの好ましい例は、一般式

【化3】



(式中、Zは直接結合、アルキレンまたはアルケニレンを、R' ~ R''は、それぞれ水素原子、水酸基または低級アルコキシを示す。ただし、R' ~ R''は同時に4個または5個の水素原子を示すことはない。) で表わされ*



(上記式中、Aは前記と同意義) 上記反応は、通常のエステル反応により行われる。

【0015】出発原料である化合物(i)および(ii)はともに公知化合物であり、容易に入手することができる。なお、上記化合物(i)はグルコースであり、化合物(ii)はカルボン酸である。

【0016】

【発明の作用・効果】本発明の有効成分であるグルコース誘導体(I)は、後記実施例から明らかなように、ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ活性を有するものであり、ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤として悪性腫瘍の治療・予防に特に有用である。その投与対象は、ヒトを含む哺乳動物(ヒト、ウマ、イヌ、マウス、モルモット、ラット等)である。

【0017】本発明のポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ阻害剤は、その有効成分であるグルコース誘導体自体または製薬上許容されるキャリア等の製剤用の添加剤との医薬製剤の形で、経口的、非経口的(経静脈的、経直腸的等)に投与される。その剤型としては、錠剤、カプセル剤、散剤、坐剤、直腸軟膏、注射剤等が例示される。当該製剤は、自体既知の方法によって調製される。

【0018】本発明の有効成分であるグルコース誘導体の投与量は、患者の年齢、体重および処置すべき病状の重度や治療に対する反応により変わりうるが、例えば、経口投与の場合、通常0.1~100mg/kg体重程度を1日1回または数回にわたって投与する。

【0019】

【実施例】以下に、本発明を詳細に説明するため実施例を挙げるが、本発明はこれら実施例によって何ら限定さ

*る基である。

【0013】当該Aの特に好ましい具体例としては、ガロイル、4-ヒドロキシ-3-メトキシベンゾイル、4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシベンゾイル、3,4,5-トリメトキシベンゾイル、4-ヒドロキシ-3-メトキシシンナモイル、4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシシンナモイル、3,4,5-トリメトキシシンナモイル、3,4,5-トリヒドロキシベンジルカルボニル、3,4,5-トリヒドロキシフェネチルカルボニル等が例示される。

【0014】本発明のグルコース誘導体(I)の製法としては、例えば、以下のような方法が挙げられる。

【化4】

れるものではない。

【0020】実施例1

① 1-O-ベンジル-D-グルコピラノース(化合物1)の合成

ベンジルアルコール(100ml)にD-グルコース(15.0g)を加えて得られた懸濁液を0℃に冷却した後、塩化水素ガスを30分間吹き込んだ。得られた溶液を2日間室温でかきまぜた後、エーテル(500ml)を加え上澄み液をデカンテーションした。この操作を3回くりかえし、得られた油状物質をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル、溶媒:クロロホルム:メタノール=8/1,5/1)に付し、化合物1(11.7g,52%)を得た。

【0021】② 3,4,5-トリベンジルオキシ安息香酸(化合物2)の合成

窒素雰囲気下にジメチルホルムアミド(50ml)、没食子酸(10g)、無水炭酸カリウム(44g)および塩化ベンジル(27ml)を加えて得られた溶液を140℃で一晩かきまぜた酢酸エチル(1リットル)で希釈した。酢酸エチル層を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。減圧下溶媒を留去後粗生成物を得た。得られた粗生成物にエタノール(200ml)および1.6N水酸化ナトリウム水溶液(50ml)を加え、加熱還流を2時間行った。反応後、エタノールを約半分ほど留去し、得られた残査を0℃に冷却し、0.5Nの塩酸で液をpHを2とした。その際、析出してきた固体を濾取した後、乾燥し化合物2(15.6g,6.4%)を得た。

【0022】③ 1-O-ベンジル-2,3,4,6-テトラキス-(3,4,5-トリベンジルオキシ)ベン

5

ソイル) -D-グルコピラノース (化合物3) の合成
 化合物2 (7.0 g)、塩化チオニル (40 ml) そしてジメチルホルムアミド (1 ml) を氷冷下混合した。得られた溶液を一夜加熱還流し、その後過剰の塩化チオニルを常圧そして減圧下で留去し化合物2の酸塩化物を調製した。窒素雰囲気下に化合物1 (0.83 g) をピリジン (10 ml) に加えかきまぜておき、その溶液中に上記手法で調製した化合物2の酸塩化物 (化合物2を7.0 g用いた場合の粗生成物) のピリジン (30 ml) 溶液を滴下した。その後室温で一晩かきまぜ、酢酸エチル (0.6リットル) で希釈した。得られた懸濁液を濾過し、酢酸エチル層を水、0.05N塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水および飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させた。減圧下溶媒を留去後粗生成物を得た。得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [シリカゲル、溶媒：酢酸エチル：ヘキサン=1/4、1/3、1/2] に付し化合物3 (2.85 g、49%) を得た。

【0023】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 4.2~4.8 (m, 3H), 4.8~5.1 (m, 24H), 5.1~5.7 (m, 3H), 6.1~6.3 (m, 1H), 7.1~7.5 (m, 72H).

IR (KBr, cm^{-1}): 1718, 1580

【0024】④ 2, 3, 4, 6-テトラキス-O-ガロイル-D-グルコピラノース (化合物4) の合成
 窒素雰囲気下に化合物3 (2.85 g)、酢酸エチル/メタノール (3/1:150 ml) およびパラジウム-ブラック (3.0 g) を加えた後に水素置換を行い反応を開始した。室温で1時間ほどかきまぜた後、パラジウム-ブラックを濾去した。得られた濾液を濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー [シリカゲル、溶媒：ヘキサン：テトラヒドロフラン：メタノール=60/30/10、50/37.5/12.5、40/45/15] に付し化合物4 (0.94 g、86%) を得た。

【0025】 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 4.3~4.5 (m, 2H), 5.0~5.2 (m, 2H), 5.3~5.5 (m, 2H), 5.8~6.2 (m, 1H, H¹), 6.7~7.1 (m, 8H), 9.19 (brs, 12H).

IR (KBr, cm^{-1}): 3300, 1700, 1610

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 62.0, 66.2, 67.0, 68.4, 69.4, 89.5, 104.2, 108.8, 116.2, 116.3, 116.5, 116.6, 119.1, 138.6, 138.7, 139.0, 142.8, 143.0, 145.3, 145.5, 145.5, 164.5, 164.7, 165.0, 165.2, 165.5 (α , β 混合物).

【0026】実施例2

6

1, 2, 3, 4, 6-ペンター-O-ガロイル- β -D-グルコピラノース (化合物5) の合成

タンニン酸 (25 g)、メタノール (200 ml) および 0.1M酢酸-酢酸ナトリウム (pH6.0) (200 ml) を加え、37℃の恒温槽で7日間ときどきかきまぜながら反応を行った。反応後、溶液量が約半分になるまで濃縮し、得られた濃縮液を酢酸エチルで抽出した。得られた抽出液を水、飽和食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去後粗生成物 (約20 g) を得た。得られた粗生成物 (10 g) についてシリカゲルカラムクロマトグラフィー [シリカゲル、溶媒：ヘキサン：テトラヒドロフラン：メタノール=6/3/1、50/37.5/12.5、4/4.5/1.5] に付し化合物5 (1.39 g) を得た。

【0027】 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 4.3 (brs), 4.5~4.6 (m), 5.94 (d, d, J=9.7), 6.35 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.77 (s, 2H), 6.82 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 6.92 (s, 2H), 6.98 (s, 2H), 9.11 (brs, 15H).

IR (KBr, cm^{-1}): 3350, 1700, 1610

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 61.3, 67.6, 70.5, 71.9, 72.2, 91.7, 108.8, 117.4, 118.0, 118.1, 118.9, 138.6, 138.8, 139.0, 139.5, 145.3, 145.3, 145.4, 145.6, 163.9, 164.4, 164.6, 164.8, 165.4.

【0028】実施例3~5

実施例1に準じて以下の3種の化合物を合成した。

実施例3

1, 2, 3, 4, 6-ペンター-O-(3, 5-ジメトキシ-4-ヒドロキシシナモイル)-D-グルコピラノース

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$) δ : 3.78~4.01 (m, 30H), 4.27~6.90 (m, 7H), 6.13~6.55 (m, 5H), 6.60~6.90 (m, 10H), 7.46~7.80 (m, 5H)

IR (KBr, cm^{-1}): 2950, 2850, 1710, 1630, 1600, 1510, 1460, 1280, 1220

【0029】実施例4

1, 2, 3, 4, 6-ペンター-O-(3, 4, 5-トリメトキシベンゾイル)-D-グルコピラノース

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.8~4.1 (m, 45H), 4.3~4.9 (m, 3H), 5.57 (d, 0.4H), 5.7~5.9 (m, 1.6H), 5.9~6.2 (m, 0.6H), 6.2~6.4

7

8

(m, 1H), 6.81 (d, 0.4H), 7.1~7.5 (m, 10H)

IR (KBr, cm^{-1}): 1720, 1580, 1330, 1210, 1125 mp . 85~90°C

【0030】実施例5

1, 2, 3, 4, 6-ペンター-O-(3, 4, 5-トリメトキシシナモイル)-D-グルコース

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3.60~4.05 (m, 4.5H), 4.30~6.97 (m, 7H), 6.19~6.55 (m, 5H), 6.60~6.97 (10H)

IR (KBr, cm^{-1}): 2930, 1720, 1630, 1580, 1500, 1270, 1240, 1130

【0031】実験例1 ポリ(ADP-リボース)グリ*

製剤例1:錠剤

① 本発明化合物	10g
② 直打用微粒No. 209 (富士化学社製)	110g
メタケイ酸アルミン酸マグネシウム	20%
トウモロコシデンプン	30%
乳糖	50%
③ 結晶セルロース	60g
④ CMCカルシウム	18g
⑤ ステアリン酸マグネシウム	2g

【0033】①、③および④はいずれも予め100メッシュの篩に通す。この①、③、④と②をそれぞれ乾燥して一定含水率にまで下げた後、上記の重量割合で混合機を用いて混合する。全質均等にした混合末に⑤を添加して短時間(30秒間)混合し、混合末を打錠して、1錠200mgの錠剤とした。

【0034】この錠剤は必要に応じて通常用いられる胃溶性フィルムコーティング剤(例えば、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート)や食用性着色剤でコーティングしてもよい。

【0035】

製剤例2:カプセル剤

① 本発明化合物	50g
----------	-----

*コヒドロラーゼ阻害作用

アッセイ用バッファー(0.01%ウシ血清アルブミン-10mMメルカプトエタノール-50mMカリウム・リン酸、pH7.0)に、 ^3H -(ADP-リボース)を加え、その27 μl に被験物質およびヒト胎盤より調製した核由来、ポリ(ADP-リボース)グリコヒドロラーゼ溶液を加えて全量30 μl とした後、37°Cにて1時間インキュベーションした。その後、DE81濾紙に反応液を吸収させ、水、エタノール、アセトンで濾紙を洗浄した後、それを乾燥させ、液体シンチレーションカウンターにて、未反応基質 ^3H -(ADP-リボース)を測定し、本酵素に対する試験物質の阻害作用を検討した。その結果、化合物4の IC_{50} 値は22 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、化合物5では7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

【0032】

② 乳糖	930g
③ ステアリン酸マグネシウム	20g

【0036】上記成分をそれぞれ秤量した後均一に混合し、混合粉体をハードゼラチンカプセルに200mgずつ充填した。

30 【0037】製剤例3:注射剤

① 本発明化合物	5mg
② ブドウ糖	100mg
③ 生理食塩水	10ml

【0038】上記の混合液をメンブランフィルターで濾過後、再び除菌濾過を行い、その濾過液を無菌的にバイアルに分注し、窒素ガスを充填した後、密封して静脈内注射剤とした。

THIS PAGE BLANK (USPTO)